

**II МЕЖДУНАРОДНАЯ
НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ**

БИОРАЗНООБРАЗИЕ И УСТОЙЧИВОЕ РАЗВИТИЕ

12-16 сентября 2012 года, г. Симферополь, Украина



ТЕЗИСЫ ДОКЛАДОВ

Симферополь, 2012

БИОХИМИЧЕСКИЙ СОСТАВ ЦИАНОБАКТЕРИЙ *ARTHROSPIRA PLATENSIS*
ОБЕЗВОЖЕННЫХ С НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНЫМИ ЗАЩИТНЫМИ СОЕДИНЕНИЯМИХарчук И. А.¹, Лучникова О. В.²¹Институт биологии южных морей им. А.О. Ковалевского НАН Украины, г. Севастополь, Украина²Севастопольский национальный технический университет, г. Севастополь, Украина

В зависимости от целей и задач, стоящих перед исследователями при изучении альгологического материала, выбирают способ хранения водорослей – в живом, высушенном или фиксированном состоянии и подбирают соответствующий консервант. Известно, что полное подавление биоэнергетики (состояние анабиоза) может достигаться только после снижения содержания воды в клетках, например, в цистах ниже 5%, а предельный уровень обратимого высушивания не должен превышать 2% от исходного. Биохимические реакции в не цистированных клетках прекращаются при остаточной влажности ниже 10%, что приводит к консервирующему эффекту при обезвоживании [1].

На уровне клетки большую роль в обеспечении высокого водного потенциала играет осмотическая регуляция, которая сопровождается накоплением осмолитов в клетках для предотвращения потери воды [2]. Внутриклеточные осмолиты могут быть как неорганическими ионами (преимущественно поглощаемыми из внешней среды), так и органическими веществами (синтезируемыми и транспортируемыми в растении) [6]. Для поддержания низкого водного потенциала растения накапливают органические низкомолекулярные совместимые осмолиты (нетоксичные в высоких концентрациях). Роль таких веществ играют различные моно- и олигосахариды, аминокислоты, в первую очередь, пролин, бетаины и многоатомные спирты (маннитол, пинитол, сорбитол, арабитол). Наряду с осморегуляцией совместимые вещества выполняют еще одну очень важную функцию – это защитная или протекторная по отношению к цитоплазматическим биополимерам. Поэтому осмолиты называют еще осмопротекторами. Считается, что осмолиты не разрушают гидратные оболочки биополимеров. Например, глицин-бетаин образуется в клетках многих водорослей и высших растений. Он образуется в хлоропластах из холина, входящего в состав фосфолипидов. Накопление глицин-бетаина в клетках способствует повышению засухо- и солеустойчивости растений. [6].

Накопление низкомолекулярных защитных соединений, которые отличаются полифункциональностью, в настоящее время считается одним из ключевых механизмов адаптации к абиотическим стрессорам разной природы, в том числе к тепловому. Доказана способность сахаров повышать стабильность биомембран путем формирования слабых связей с кислородными атомами фосфатов фосфолипидов, про-

демонстрировано их антиденатурационное влияние на белки [4].

Поэтому целью работы было исследование биохимического состава цианобактерий *Arthrospira platensis* обезвоженных с использованием низкомолекулярных защитных соединений в качестве протекторов.

Объектом исследования была культура *Arthrospira (Spirulina) platensis* (штамм IBBS – 31), выращиваемая в отделе биотехнологии и фиторесурсов ИнБЮМ НАН Украины. Цианопрокариоты культивировали в накопительном режиме, при постоянном круглосуточном освещении и автоматическом перемешивании с использованием насоса для удаления избытка кислорода из среды и равномерного прогрева всего слоя питательного раствора культуры. Интенсивность света на поверхности раствора составляла 8 кЛк. Температура среды колебалась в диапазоне 20-25°C. В качестве питательной среды использовали среду Заррук [9]. Объем среды в культиваторах составлял 3 л, при толщине слоя раствора 4,5 см. На стационарной фазе роста проводили концентрирование трихомов на планктонном сите 100 ПЭ [11]. Клетки промывали дистиллированной водой в соотношении 1:3 (вода: клетки), затем разделяли на три равные части и к двум из них добавляли растворы 1% глюкозы и 1% сахарозы, после чего помещали в термостат при температуре 30°C на 24 ч. Обезвоженные культуры хранили в герметично закрытых полиэтиленовых упаковках, в темноте при температуре 15–20°C. Влажность в обезвоженных культурах определяли стандартным методом доведения до постоянной массы [5].

Пробы обрабатывали по схеме комплексного химического анализа гидробионтов [3]. Массовую долю белка в водорослях определяли по методике Лоури [10], содержание пигментов – спектрофотометрическими методами на приборе СФ - 2000 [12]. Хлорофилл (ХЛ) *a* из обезвоженных клеток *A. platensis* экстрагировали 90 % ацетоном; оптическую плотность полученных супернатантов регистрировали при 664 и 647 нм [12]. Каротиноиды (КР) оценивали в суммарной вытяжке пигментов *A. platensis* по поглощению в области 480 нм [12]. Общее содержание липидов определяли колориметрическим методом с фосфованилиновым реактивом [7]. Определение углеводов проводили колориметрическим методом с L-триптофановым реактивом [7]. Количество свободных нуклеотидов (СН), РНК и ДНК

определяли спектрофотометрическим методом [8]. Регистрируемые показатели химического состава выражали в пересчете на сухую массу (СМ). Влажность в обезвоженных культурах определяли стандартным методом доведения до

постоянной массы [5]. Данные подтверждены статистически с помощью критерия t-Стьюдента (при $p=0.95$).

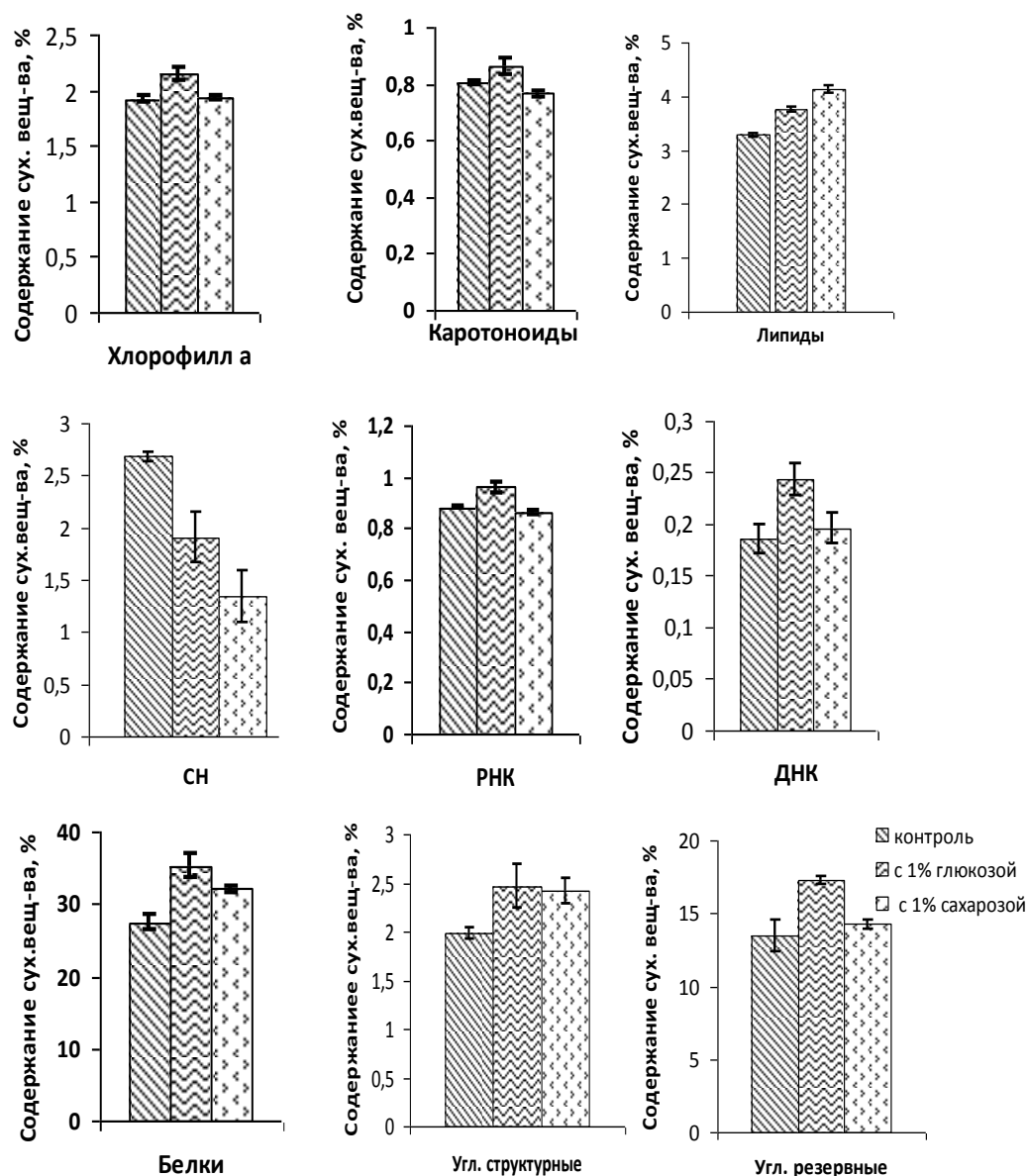


Рис. 1. Содержание биохимических компонентов в клетках *Arthrospira platensis* обезвоженных с низкомолекулярными защитными соединениями перед закладкой на длительное хранение

При сравнении биохимических компонентов в клетках *A. platensis* обезвоженной с растворами сахаров (рис. 1) установлено, что в клетках дегидратированных с раствором 1% глюкозы содержание хлорофиллов, каротиноидов, РНК, ДНК, белков и резервных углеводов статистически выше, чем в клетках, обезвоженных с 1% сахарозой и без протектора (контрольная культура).

Доля хлорофилла *a* в клетках цианобактерий *A. platensis* переведённых в состояние ангидриобиоза в присутствии глюкозы была на 10% выше, чем в культуре, обезвоженной без

протектора и с 1% сахарозой, содержание каротиноидов было выше на 7 и 10% соответственно, РНК - на 8 и 10%, ДНК - на 22 и 18%, белков - на 20 и 9%, резервных углеводов на 20 и 17%. Отмечено, что количество структурных углеводов и липидов в клетках, обезвоженных с сахарами было статистически одинаково, но на 15-20% выше, чем в контрольной культуре. Также зарегистрировано снижение доли свободных нуклеотидов в клетках дегидратированных с низкомолекулярными защитными соединениями, это может свидетельствовать о том, что сахара проявляют протекторное действие на молекулы

биополимеров РНК и ДНК. Содержание свободных нуклеотидов в контрольной культуре, обезвоженной без протекторов было выше, чем в культурах, с добавлением 1% глюкозы и 1% сахарозы в 1,4 и 2 раза соответственно.

Таким образом, исследование трихомов *A. platensis*, обезвоженных с добавлением не проникающих низкомолекулярными осмолитов показали, что 1% раствор глюкозы оказывает протекторное воздействие на пигментный комплекс клеток, структуры РНК, ДНК и белков,

а так же защищает от разрушения резервные и структурные углеводы. Раствор 1% сахарозы при обезвоживании, также оказывает защитное действие на такие биохимические компоненты, как липиды, белки и структурные углеводы, однако они проявляются в меньшей степени, чем у глюкозы. Сравнительный анализ показал, что для сохранения клеток цианопрокариотов *A. platensis*, в качестве термопротекторов более эффективным является использование раствора 1% глюкозы.

Список источников

1. Бекер М. Е. Анабиоз микроорганизмов / М. Е. Бекер, Б. Э. Дамберг, А. И. Рапопорт. – Рига : Зинатне, 1981. – 252 с.
2. Бекер М. Е. Живая клетка и ее жизнедеятельность / М. Е. Бекер, Е. П. Райпулис // Биотехнология [под ред. М. Е. Бекер, Г. К. Лиепиньш, Е. П. Райпулис] – М. : ВО Агропромиздат, 1990. – С. 7–41.
3. Копытов Ю. П. Схема комплексного биохимического анализа гидробионтов / Ю. П. Копытов, И. А. Дивавин, И. М. Цымбал // Материалы конф. «Рациональное использование ресурсов моря – важный вклад в реализацию продовольственной программы» // АН УССР. ИнБЮМ. – Севастополь, 1985. – 4.2. – С. 227–231. – Деп. В ВИНТИ 16.04.85, № 2556 – 85.
4. Кузнецов В. В. Растения и стресс, или жизнь на грани жизни / В. В. Кузнецов // Вестник российской академии наук. Научная жизнь. – 2002. – Т. 72, № 7. – С. 659–662.
5. Методы физиолого-биохимического исследования водорослей в гидробиологической практике / отв. ред. А. В. Топачевский – Киев : Наук. думка, 1975. – 247 с.
6. Растения и стресс // Уральский гос. университет им. А.М. Горького: курс лекций. – Екатеринбург, 2008 – с. 267.
7. Руководство по современным биохимическим методам исследования водных экосистем, перспективных для промысла и марикультуры // [под ред. А.И. Агатова], - Изд-во ВНИРО, 2004
8. Спирин А. С. Спектрофотометрическое определение суммарного количества нуклеиновых кислот / А. С. Спирин // Биохимия. – 1958. – Т. 23, № 5. – С. 656
9. Faucher O. Utilization of seawater – urea as a culture medium for *Spirulina maxima* / O. Faucher, B. Coupal, A. Leduy // Can Journ. Microbiol. – 1979. – Vol. 25, № 6. – P. 752
10. Protein measurement with folin phenol reagent / O. H. Lowry, N. J. Rosebrough, A. L. Faar [et all] // Journ. Biol. Chem. – 1951. – 193, № 1. – P. 265–275.
11. Quatitative assessment of the major limitations on productivity of *Spirulina platensis* in open raceways / A. Richmond, E. Lichtenberg, B. Stahl [et all] // Journ. Appl. Phycol. – 1990. – Vol 2, № 3. – P. 195–206.
12. Rowan K. S. Photosynthetic Pigments of Algae / K. S. Rowan // Cambridge : Cambridge Univ. Press, 1989. – 334 p.

УДК 574

ПРОБЛЕМЫ СОХРАНЕНИЯ БИОЛОГИЧЕСКОГО И ЛАНДШАФТНОГО РАЗНООБРАЗИЯ НА ТЕРРИТОРИИ ТВЕРСКОЙ ОБЛАСТИ

Хуторова А.О., Пименовская Я.В.

ФГБОУ ВПО Государственный университет по землеустройству, г.Москва, Россия

Человек и природа с течением времени все больше отдаляются друг от друга. Безрассудство и потребительство по отношению к природе поставило под угрозу не только биологическое разнообразие и целостность естественной среды, но и жизнь самого человечества.

Беспокойство о дальнейшей судьбе биоразнообразия видов на нашей планете впервые в мировом масштабе выразилось в 1992 году. Тогда в Рио-де-Жанейро состоялась Конференция Организации Объединенных Наций (ООН) по окружающей среде и устойчивому развитию. В ходе конференции мировой общественностью первоначально было предложено обратить внимание на проблему биологического разнообразия – как живых видов в общем, так и внутри экологических систем. Результатом этого масштабного мероприятия в

итоге стала Конвенция о биологическом разнообразии, которую подписали 145 стран [1, 2]. В настоящее время ее сторонниками являются уже более 200 государств. Факт принятия этого документа подтвердил важность проблемы, стоящей перед всем человечеством, которое, таким образом, выразило свою готовность в будущем делать все возможное для сохранения природной среды, ее богатства. Символично первый год двадцать первого века – 2001 год – был объявлен ЮНЕСКО Годом биологического разнообразия.

В 1995 году Государственная Дума Российской Федерации приняла закон «О ратификации Конвенции о биологическом разнообразии». Таким образом, Россия также стала членом этой важной международной конвенции. В связи с этим, все большую